基于 LC-MS 技术的丽豆-大豆比较代谢组研究

胡 悦[1]，任保青[2]，陈陆琴[2]，曹建庭[2]，刘兵兵[1*]

（1. 山西大学黄土高原研究所，太原 030006；2. 太原植物园，太原 030021）

摘 要：丽豆（*Calophaca sinica*）是我国华北地区特有的一种珍稀野生植物。为探明丽豆的营养价值，该文以大豆为参照组，利用液相色谱-质谱联用技术对其种子进行了比较代谢组学研究。结果表明：(1) 丽豆和大豆中共检测到 1 857 种代谢产物，二者成分相同且含量相似的代谢物有 1 698 种（> 90%），差异代谢物有 159 种（< 10%）。(2) 在差异代谢物中，成分差异的有 9 种，其中有 5 种为丽豆特有，剩余 150 种均为含量差异，其中 48 种（约 30%）在丽豆中的含量高于大豆。(3) KEGG 注释到 8 条差异代谢物显著富集（$P < 0.1$）的通路，主要包括初生代谢物的各类氨基酸生物合成途径和次生代谢物的罗汉松脂素，花生四烯酸以及二萜类等生物合成途径。(4) 丽豆比大豆含量低的化学组分主要是初生代谢产物，比大豆含量高的化学组分主要是次生代谢物，而这些次生代谢物在调节血糖、骨坏损修复、增强免疫以及消炎抗癌等生理过程中有着积极的作用。综上所述，该研究认为丽豆与大豆具有相近的营养价值，且对改善人类亚健康状况有积极的影响；此外，该文使我们对丽豆的营养价值和代谢组成分都有了较为全面的了解，同时也为我们对丽豆资源的深度开发和高效利用提供了必要的数据基础。

关键词：丽豆，大豆，液相色谱-质谱联用，代谢组，成分分析

中图分类号：Q945.1　　　**文献标识码：**A

Comparative analysis of differential metabolites between *Calophaca sinica* and *Glycine max* based on LC-MS metabolomics technology

HU yue[1], REN Baoqing[2], CHEN Luqin[2], CAO Jianting[2], LIU Bingbing[1*]

(1. *Loess Plateau Research Institute, Shanxi University*, Taiyuan 030006, China; 2. *Taiyuan Botanical Garden*, Taiyuan 030021, China)

Abstract：*Calophaca sinica* is a rare wild plant endemic to north China. To explore the nutritive value of *C. sinica*, the comparative metabolomics of *C. sinica* and *Glycine max* (as control group) seeds were studied by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). The results were as follows: (1) A total of 1 857 metabolites were detected in these two species, and 1 698 metabolites were similar in composition and content (> 90%), and only 159 differential metabolites (< 10%). (2) Among 159 differential metabolites, nine were different in composition, of which 5 were unique to *C. sinica*, and the others 150 were different in content, of which 48 chemical components (about 30%) were higher in *C. sinica* than in *Glycine max*. (3) Eight pathways were significantly enriched with differential metabolites ($P < 0.1$) by KEGG annotation, and it mainly including primary metabolite (various amino acid) and secondary metabolites (such as matairesinol, arachidonic acid and diterpenoids), biosynthesis pathways. (4) Among these statistically significant differential chemical components, which of lower content in *C. sinica* are mainly primary metabolites, and higher content are mainly secondary metabolites. These secondary metabolites play an active role in regulating blood glucose, repairing bone damage, enhancing immunity, anti-inflammatory and anticancer. In summary, the result supports that the nutritional value of *C. sinica* is similar to that of *Glycine max*, and it also has a positive effect on improving human sub-health status. Meanwhile, this study provides us a relatively comprehensive understanding of the metabolic composition of *C. sinica* seeds and a necessary data set for the deep development and efficient utilization of *C. sinica* resources in future.

基金项目：国家自然科学基金（41601055）；山西省重点研发计划项目（201903D221071）[Supported by National Natural Science Foundation of China (41601055)；Key R & D Project of Shanxi Province (201903D221071)]。

第一作者：胡悦（1998-），硕士研究生，研究方向为资源利用与植物保护，（E-mail）hy199888@163.com。

*__通信作者：__刘兵兵，博士，副教授，研究方向为植物生态学，（E-mail）lbb2015@sxu.edu.cn。

Keywords：*Calophaca sinica*, *Glycine max*, LC-MS, metabolome, component analysis

丽豆 (*Calophaca sinica*) 是一种多年生直立灌木，为虫媒异花授粉型植物，隶属于豆科蝶形花亚科丽豆属 (*Calophaca* Fisch. ex DC.)。该属约 10 个种，有 3 个种分布在中国，分别是丽豆 (*C. sinica*)、华丽豆 (*C. chinensis*) 和新疆丽豆 (*C. soongorica*) （李建平和陈思，2019）。其中，丽豆仅分布在内蒙古阴山山脉以南和山西中南部地区，目前其分布范围和个体数量仍在不断缩小（马倩，2012），已成为华北地区特有的一种珍稀易危植物（中国科学院中国植物志委员会，1993）。有研究表明，丽豆种子营养价值较高，富含蛋白质、碳水化合物、糖类等人体不可或缺的营养物质，极具开发潜力（李建平和陈思，2019）。此外，丽豆具有耐寒、耐旱、耐土壤贫瘠的特性，能在较为严峻的环境中生存，且能为水土保持做出一定贡献（武红柱等，2017）。然而，我们对这样一种兼具经济和生态双重价值，且处于易危状态的植物却缺乏足够的了解，尤其是利用代谢组学方法对其种子代谢组化学成分的解析鲜有报道。

植物代谢组学是一门新兴的交叉学科（郭凤丹，2017），是系统生物学的主要分支之一（曾超珍，2017）。它可对提取物中参与生物体新陈代谢且相对分子量不足 1 000 的内源性小分子（张传义，2018）进行无差别的整体性代谢成分分析。代谢组学的研究方法经历了质谱(mass spectrometry, MS)（Julian，2003）、高效液相色谱(high-performance liquid chromatog-raphy, HPLC)（林艳萍，2007）、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等技术，目前最新的方法是基于液相色谱-质谱联用(liquid chromatograph-mass spectro-meter, LC-MS)的代谢组学技术，此技术可以找到相似物种成分之间的变化趋势，从整体上研究其代谢产物的差异，目前已在植物学（段礼新和漆小泉，2015）、微生物学、医学（Tamas，2011）等各个领域得到了广泛的应用。比如，Rafael 等（2019）通过 LC-MS 代谢组学方法分析了鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)，扁豆*(Lens culinaris*)和白豆(*Phaseolus vulgaris*)之间的代谢物差异，结果从 43 种差异代谢物中鉴定到了三个种间的判别性化合物；Gong 等（2020）通过比较代谢组学分析了 3 个水稻品种食用品质的内在机制，从而揭开了三个品种间口感和风味差异的核心因素；高淑芳**等**（2022）利用 LC-MS 技术表征了刀鲚卵巢内 400 多种化学成分，并通过比较代谢组学方法鉴定出海水刀鲚和淡水刀鲚之间的 47 种差异代谢物，揭示了二者在卵巢发育上的分化；武绍龙等（2022）采用 LC-MS 技术鉴定出马缨杜鹃在不同时期的 973 种代谢物，揭示了马缨杜鹃花从开花至凋谢过程中代谢产物的变化情况；姜武等（2021）对不同种质多花黄精的化学成分进行 LC-MS 检测，从红杆和绿杆多花黄精样品中共筛选出 22 种代谢产物，其中在红杆多花黄精中表达量高于绿杆多花黄精的差异代谢物就有 15 种，此结果可为多花黄精优良品种的选用提供一定的理论支持；Yuan 等（2021）探究了西瓜野生种和栽培种间的差异代谢物，共鉴定出 431 种差异代谢物，为基于代谢组学的西瓜果实改良提供了数据基础，促进了其营养特性的增强或种质的升级。由此可见，基于 LC-MS 技术的代谢组研究为我们解析不同植物的代谢物差异和营养价值比较提供了一种高效的方法。

丽豆作为我国华北地区特有的一种珍稀野生植物资源（谢勇等，2018），亟须我们全面了解丽豆的代谢组成分，以评估其营养价值，从而为我们对丽豆资源的深度开发和高效利用提供科学依据。大豆（*Glycine max*）是丽豆的近缘种，它们同属于豆科蝶形花亚科，也是人们日常植物蛋白最重要的来源之一（武林琳，2022），其所含有的多种生物活性成分对预防各种心脑血管疾病、糖尿病和癌症起到一定的作用（Kumar et al., 2013）。因此，本研究选择大豆为对照样品，采用基于 LC-MS 技术的比较代谢组方法对丽豆和大豆的代谢产物进行比较，并通过 KEGG 数据库开展代谢通路富集分析，解析其功能和作用，以期深入评估丽豆的营养价值和应用前景。本研究结果将为我们对丽豆资源的开发利用，也为将来全面揭示丽豆代谢组组成提供数据基础。



图 1 丽豆(**a**)植株及(**b**)种子照片

Fig. 1 Photos of (**a**) plant and (**b**) seeds of *Calophaca sinica*

1 材料与方法

1.1 材料

在本研究中，大豆是生活超市中最常见的黄大豆，而丽豆采自其原生境之一的山西省太原市天龙山自然保护区的山坡灌木丛中（112° 25' 10.56" E、37° 43' 22.44" N），海拔 1 180 m。天龙山自然保护区地处黄土高原及华北平原交界抬升区，海拔落差大，气候分区丰富，属暖温带大陆性季风气候，受季风影响，夏秋多雨并集中，冬春干旱多西北风，多年平均降水量 487 mm（郭艳萍和李洪建，2022），年内降水分配不均，主要集中于 7、8、9 月；保护区内植物资源较为丰富，植被覆盖度高，且相对稳定，具有典型的北温带性质（郭秋霞, 2021）。按照生态学调查采样方法我们采集了 50 株丽豆的种子，种子带回实验室后，每株随机选取 3~5 粒饱满的种子制成 1 份混合样品用于后续的代谢组分析。

1.2 代谢物提取

主要处理流程如下：

（1）取大豆和丽豆种子各 10 g（大约 100 粒），研磨仪充分打碎、研磨至粉状待用；

（2）在 1.5 ml EP 管中加入 100 μL（约 100 mg）步骤一中的样本，再加入 300 μL 甲醇和 20 μL 内标，涡旋混匀 30 s；

（3）冰水浴超声 10 min；

（4）零下 20 ℃ 静置 1 h；

（5）在 4 ℃，13 000 r • min^{-1} 条件下将样本离心 15 min；

（6）小心地取 200 μL 上清液加入 2 mL 进样瓶中，再取 200 μLQC (quality control, QC) 样本上机检测。

1.3 上机检测

由沃特世 Acquity I-Class PLUS 超高效液相串联沃特世 Xevo G2-XS QTof 高分辨质谱仪组成用于代谢组学分析的液质联用系统，所使用色谱柱为购自沃特世的 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（1.8 μm 2.1×100 mm）。

正离子模式：流动相 A：0.1%甲酸水溶液；流动相 B：0.1%甲酸乙腈；负离子模式：流动相 A：0.1%甲酸水溶液；流动相 B：0.1%甲酸乙腈。进样体积为 1 μL。

表 1 液相色谱流动相条件

Table 1 Liquid chromatography mobile phase conditions

时间 Time (min)	流速 Current speed (μL·min^{-1})	A%水（25mmol·L^{-1} 醋酸铵及 25 mmol·L^{-1} 氨水） A% water (25 mmol·L^{-1} Ammonium acetate and 25 mmol·L^{-1} Ammonia)	B%乙腈 B% Acetonitrile

0	400	98	2
0.25	400	98	2
10.00	400	2	98
13.00	400	2	98
13.10	400	98	2
15.00	400	98	2

1.4 代谢物定量

对 MassLynx V4.2 采集的原始数据使用 Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据处理操作，基于 Progenesis QI 软件在线 METLIN 数据库及北京百迈客生物科技有限公司自建库进行鉴定，同时进行理论碎片识别。分析前先对数据进行了归一化处理，采取的方式是总峰面积归一化即每个样本的每个代谢物除以该样本总的峰面积。

1.5 KEGG 分析

将所有鉴定到的代谢物整理成*.txt 文件，上传至 KEGG 数据库（https://www.kegg.jp/kegg/）代谢物通路进行注释分析，在注释结果中，选取 KO pathway level2 条目注释最多的 top20 注释信息绘图。

2 结果与分析

2.1 丽豆与大豆代谢组成分分析

丽豆和大豆中共检测到 1 857 种代谢组成分，分属于 68 个种类（图 2）。其中，其他类的化学成分最多，有 1 271 种；而在剩余的 586 种代谢组成分中，羧酸及其衍生物（即氨基酸类）的种类最多，有 135 种；其次为脂肪酰基，有 68 种；再次为丙烯醇脂质 43 种，有机氧化合物 40 种，类固醇及其衍生物 34 种以及甘油磷脂 28 种。这一结果表明丽豆和大豆一样，含有丰富多样的氨基酸类化合物，具有很好的营养价值。

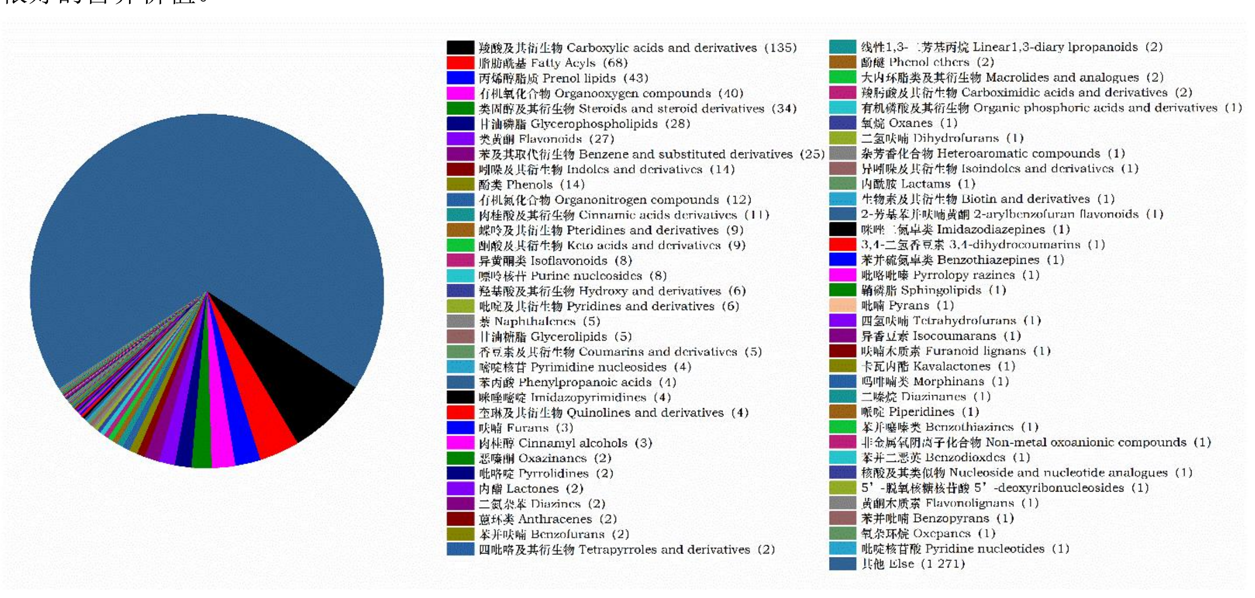


图 2 丽豆与大豆代谢组成分类别统计

Fig. 2 Categorical statistics of metabolic composition of *Calophaca sinica* and *Glycine max*

2.2 丽豆与大豆差异代谢物分析

通过对丽豆和大豆的代谢组成分的种类和含量进行两两比较，共检测出 159 种差异代谢物（表 2）。其中，大约 30%（48 种）的差异代谢物在丽豆中含量高于大豆，且有 5 种为丽豆中特有成分；而剩余约 70%（111 种）的差异代谢物在丽豆中的含量低于大豆，且有 4 种在丽豆中未被检出，是大豆的特有成分。由上述结果可见，在代谢物成分的含量上，二者的差异不足 10%，即丽豆中超过 90%的代谢物

在含量上与大豆相似，表明丽豆与大豆一样，具有很高的营养价值；而在差异代谢物成分的种类（159种）组成上，丽豆仅比大豆少 4 种，同时它又比大豆多了 5 种独有的成分，这表明与大豆相比，丽豆有其独特的营养价值。

表 2 丽豆和大豆的差异代谢物

Table 2 Differential metabolites of *Calophaca sinica* and *Glycine max*

类别 Classification	数量 Quantity	差异代谢物 Differential metabolites
羧酸及其衍生物 Carboxylic acid and derivative	12	精氨酰-色氨酸、谷氨酰-组氨酸、组氨酸-三磷酸、高柠檬酸、L-酵母氨酸、L-缬氨酸、赖氨酰-天冬酰胺、苏氨酸-甲硫氨酸、α-N-乙酰-L-谷氨酰胺、茶氨酸、L-苯丙氨酸-L-脯氨酸、丝氨酸-组氨酸 Arginyl-Tryptophan↓, Glutamyl-Histidine↓, Histidinyl-Tryptophan↓, Homocitrate↓, L-Saccharopine↓, L-Valine↓, Lysyl-Asparagine↓, Threoninyl-Methionine↓, Alpha-N-Acetyl-L-glutamine↓, Theanine↓, L-phenylalanyl-L-proline↑, Serinyl-Histidine↑
脂肪酰基 Fatty acyl	6	15-脱氧-Δ12,14-前列腺素 J2、3-甲基己二酸、人参炔醇、分解素、Δ12-前列腺素 J2、2,2-二甲基丁二酸 15-Deoxy-delta-12,14-PGJ2↓, 3-Methyladipic acid↓, Panaxynol↓, D2 Resolvin D2↓, Delta-12-PGJ2↑, 2,2-Dimethyl Succinic acid↑
有机氧化合物 Organooxygen compound	6	1,3-二咖啡酰奎宁酸、5-氨基-6-三硝基尿嘧啶、熊果苷、D-葡萄糖酸盐、奎宁酸盐、3-羟基犬尿氨酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid↓, 5-Amino-6-ribitylamino uracil↓, Arbutin↓, D-Glucarate↓, Quinate↑, 3-Hydroxykynurenine↑
甘油磷脂 Glycerophospholipid	5	1-硬脂酰-2-羟基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、溶血磷脂酰胆碱(18:3(6Z,9Z,12Z))、溶血磷脂酰乙醇胺(15:0/0:0)、溶血磷脂酰乙醇胺(18:3(6Z,9Z,12Z)/0:0)、磷脂酰乙醇胺(16:0/0:0) 1-Stearoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanolamine↓, LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z))↓, LysoPE(15:0/0:0)↑, LysoPE(18:3(6Z,9Z,12Z)/0:0)↓, PE(16:0/0:0)↓
苯及其取代衍生物 Benzene and substituted derivative	3	甲氧基苯甲酸、N-甲基酪胺、4-羟基苯甲酸甲酯 Vanillic acid↓, N-Methyltyramine↑, Methyl 4-hydroxybenzoate↑
肉桂酸及其衍生物 Cinnamic acid and derivative	3	3-羟基-4-甲氧基肉桂酸、4-羟基-3-甲氧基肉桂酸、阿魏酸 3-Hydroxy-4-methoxycinnamic acid↓, 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid↓, Ferulic acid↑
香豆素及其衍生物 Coumarin and derivative	2	3-羟基香豆素、二甲氧基香豆 3-Hydroxycoumarin↓, Citropten↓
吲哚及其衍生物 Indole and derivative	2	梓木内酯、1H-吲哚-3-丙酸 Catalpalactone↓, 1H-Indole-3-propanoic acid↑
酮酸及其衍生物 Keto acid and derivative	2	吡哌酸、螺旋霉素 1 PPA↓ , Spiramycin 1↓
有机氮化合物 Organonitrogen compound	2	二甲双胍、3-胍基丙酸 Metformin↓, 3-Guanidinopropanoate↑
丙烯醇脂质 Prenol lipid	2	银杏内酯 J、对映-贝壳杉-16-烯-19-酸 Ginkgolide J↓, Ent-kaur-16-en-19-al↓
蝶呤及其衍生物 Pteridine and derivative	2	氨基蝶呤、异黄蝶呤 Aminopterin↓, Isoxanthopterin↓
类固醇及其衍生物 Steroid and steroid derivative	2	胆酸、甘氨脱氧胆酸 Cholic acid↓, Glycodeoxycholic acid↓

类黄酮 Flavonoid	1	芹菜素 7-（2'-乙酰糖苷） Apigenin 7-(2'-acetylglucoside)↓
苯酚醚 Phenol ether	1	组氨酸-赖氨酸 Histidinyl-Lysine↓
哌啶类化合物 Piperidine	1	六氢吡啶 Piperidine↓
嘌呤核苷 Purine nucleoside	1	鸟嘌呤核苷 Guanosine↓
嘧啶核苷 Pyrimidine nucleoside	1	胸腺嘧啶核苷 Thymidine↓
四环素类 Tetracycline	1	氧四环素 Oxytetracycline↑
酚类 Phenol	1	对甲酚 P-cresol↑
恶嗪 Oxazinane	1	11β-羟基雄甾-4-烯-3,17-二酮 11beta-hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione↑
呋喃木质素 Furanoid lignan	1	巴卡丁 III Baccatin III↑
蒽环类 Anthracycline	1	道诺霉素 Daunorubicin↑
其他 Others	100	

注：↑表示该差异代谢物在丽豆中的含量高于大豆；↓表示该差异代谢物在丽豆中的含量低于大豆。

Note: ↑ means that the content of the differential metabolite in *Calophaca sinica* is higher than that in *Glycine max*; ↓ means that the content of the differential metabolite in *Calophaca sinica* is lower than that in *Glycine max*.

在 159 种差异代谢物中，丽豆比大豆含量高的化学组分共有 43 种，其具体的相对含量详见表 3。由表 3 可见，仅有不到 10 种化学组分属于初级代谢物，如属于氨基酸类代谢过程中的 L-苯丙氨酸-L-脯氨酸和丝氨酸-组氨酸，糖类代谢过程中的 Gypsogenin 3-O-鼠李糖基葡糖醛酸，28-[葡糖基-（1->6）-葡糖基]齐墩果酸 3-阿拉伯糖苷，以及β-柠檬酸等；其中，丽豆中 L-苯丙氨酸-L-脯氨酸的含量远高于大豆，大约是大豆的 40 倍；丽豆中β-柠檬酸的含量是大豆的 10 倍。剩余的超过 75%的化学组分均为次生代谢物，比如，丽豆在脂肪酰基、苯及其取代衍生物以及其他类化学组分中，有 12 种化学组分的含量超过大豆 10 倍之余，它们分别是△12-前列腺素 J2、奎尼酸、阿莫曲坦、N-甲基酪胺、氨苄西林、乙磺酰亚胺、4-羟基苯甲酸甲酯、脱落酸、阿魏酸等。此外，与大豆相比，丽豆中还存在 5 种特有的化学组分，它们分别是 3-胍基丙酸(3-Guanidinopropanoate)、巴卡丁 III(baccatin III)、罗汉松脂素(matairesinol)、无效苷(adynerin)和脱乙酰乙烯多林(desacetylvindoline)，也都属于次生代谢物。这一结果表明，丽豆比大豆含量高的化学组分主要集中在次生代谢物方面，而在初生代谢物中，仅 L-苯丙氨酸-L-脯氨酸具有明显的优势。

表 3 丽豆中相比大豆含量较高的化学组分

Table 3 Chemical constituents contents of *Calophaca sinica* are higher than those of *Glycine max*

化合物 Compound	类别 Classification	大豆相对含量 Relative content of *Glycine max*	丽豆相对含量 Relative content of *Calophaca sinica*	差异倍数 Fold change	*P* 值 *P* value
Δ12-前列腺素 J2 Delta-12-PGJ2	脂肪酰基 Fatty Acyls	2.86E-08	3.09E-06	107.77	0.000 3
奎尼酸 Quinate	其他 Else	9.17E-08	6.25E-06	68.19	0.007 8
L-苯丙氨酸-L-脯氨酸 L-phenylalanyl-L-proline	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives	4.74E-08	1.90E-06	40.18	0.003 1
阿莫曲坦 Almotriptan	其他 Else	1.68E-07	6.70E-06	39.88	0.000 1
N-甲基酪胺 N-Methyltyramine	苯及其取代衍生物 Benzene and	1.31E-07	4.08E-06	31.20	0.007 7

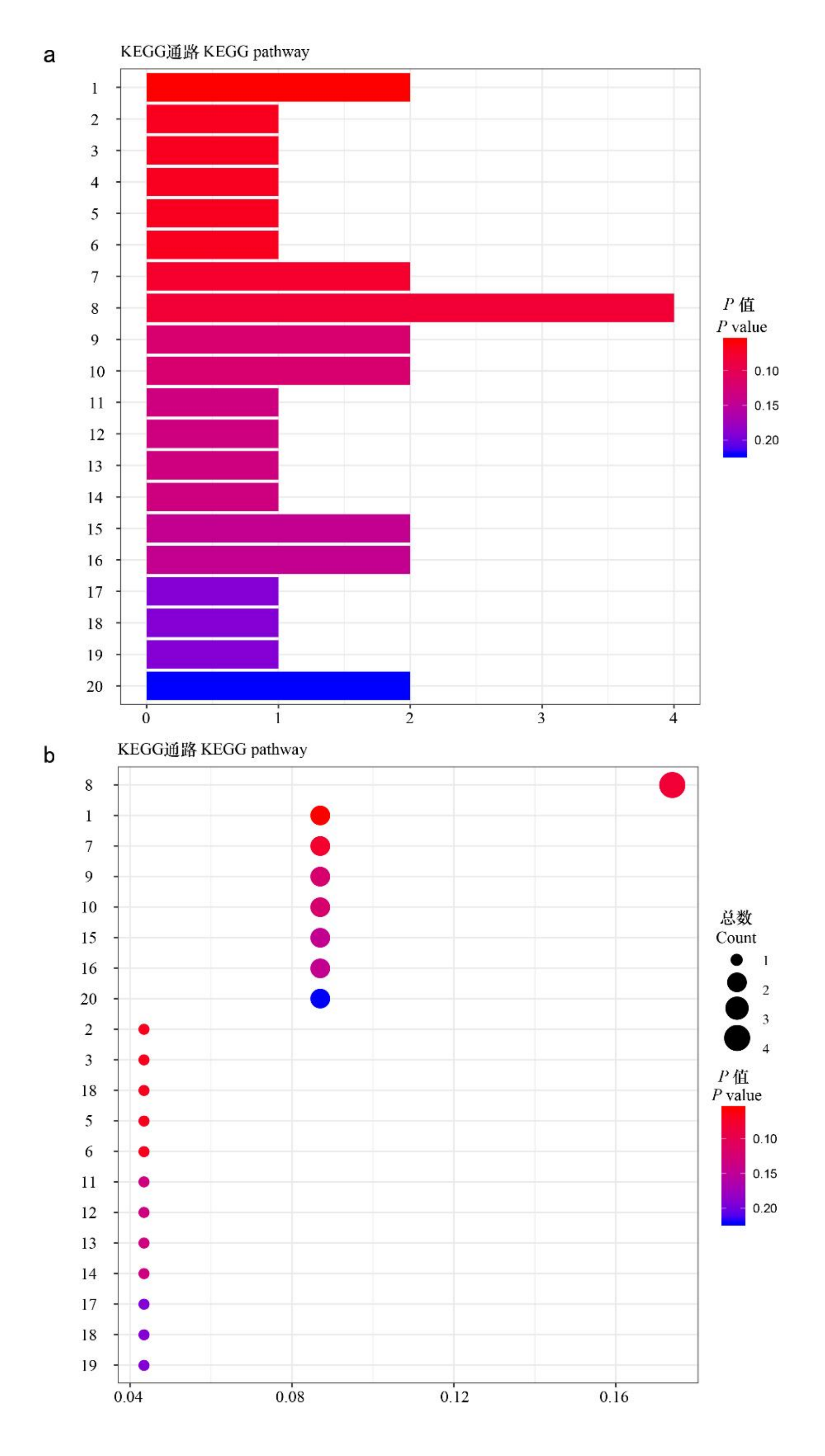
	substituted derivatives				
贝比林 Bebeerine	其他 Else	1.57E-04	0.004149	26.41	0.000 9
3-O-香芹叶甲炔醚 B 3-O-Mycarosylerythronolide B	其他 Else	5.67E-06	0.000135	23.74	0.001 2
氨苄青霉 Ampicillin	其他 Else	1.34E-07	1.81E-06	13.51	0.000 4
乙磺酰亚胺 Ethosuximide	其他 Else	2.33E-06	2.88E-05	12.39	0.004 7
4-羟基苯甲酸甲酯 Methyl 4-hydroxybenzoate	苯及其取代衍生物 Benzene and substituted derivatives	2.59E-05	0.000296	11.42	0.000 7
脱落酸 Abscisic Acid	其他 Else	9.60E-07	1.06E-05	11.05	0.004 9
2,6-二叔丁基-4-乙基苯酚 2,6-Di-tert-butyl-4-ethylphenol	其他 Else	4.03E-06	4.25E-05	10.53	0.001 9
阿魏酸 Ferulic acid	肉桂酸及其衍生物 Cinnamic acids and derivatives	3.64E-07	3.80E-06	10.44	0.001 2
β-柠檬酸 Beta-Citraurinene	其他 Else	2.39E-06	2.45E-05	10.26	0.008 8
Gypsogenin 3-O-鼠李糖基葡糖醛酸 Gypsogenin 3-O-rhamnosylglucosiduronic acid	其他 Else	1.09E-04	8.58E-04	7.85	0.001 5
γ-谷氨酰-S-（1-丙烯基）半胱氨酸亚砜 Gamma-Glutamyl-S-(1-propenyl)cysteine sulfoxide	其他 Else	2.10E-03	1.63E-02	7.74	0.003 6
氧四环素 Oxytetracycline	四环素类 Tetracyclines	3.60E-05	2.53E-04	7.03	0.003 7
4-甲基伞形花序基β-D-葡糖苷酸 4-Methylumbelliferyl beta-D-glucuronide	其他 Else	4.66E-05	3.05E-04	6.55	0.001 8
水苏糖水合物 Stachyose hydrate from Stachys tuberifera	其他 Else	2.78E-04	1.71E-03	6.13	0.009 2
1-棕榈酰-2-亚油酸基聚乙烯 1-Palmitoyl-2-linoleoyl PE	其他 Else	0.01	0.06	6.00	0.008 5
28-[葡糖基-（1->6）-葡糖基]齐墩果酸 3-阿拉伯糖苷 28-[Glucosyl-(1->6)-glucosyl]oleanolic acid 3-arabinoside	其他 Else	1.41E-03	6.82E-03	4.83	0.006 8
异东方素 3'-O-葡糖苷酸 Isoorientin 3'-O-glucuronide	其他 Else	1.85E-05	8.38E-05	4.54	0.001 8
海贝维诺苷 IV Hebevinoside IV	其他 Else	2.98E-05	1.31E-04	4.38	0.007 1
二甲基环癸三烯 Pregeijerene	其他 else	1.44E-06	6.12E-06	4.24	0.004 3
11β-羟基雄甾-4-烯-3,17-二酮 11beta-hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione	恶嗪 Oxazinanes	6.34E-06	2.39E-05	3.77	0.005 0
10,11-表二氧基炉甘石烯 10,11-Epidioxycalamene	其他 Else	2.33E-05	7.79E-05	3.34	0.007 1
谷氨酸色氨酸酪氨酸 Glu Trp Tyr	其他 Else	1.53E-04	4.87E-04	3.18	0.001 4
4-(3-羟基丁基)-3,3,5-三甲基环己酮 4-(3-Hydroxybutyl)-3,3,5-trimethylcyclohexanone	其他 Else	1.18E-05	3.59E-05	3.03	0.009 3
3-羟基犬尿氨酸 3-Hydroxykynurenine	有机氧化合物	4.15E-06	1.22E-05	2.94	0.009 0

	Organooxygen compounds				
丝氨酸天冬酰胺谷氨酰胺天冬氨酸 Ser Asn Gln Asp	其他 Else	9.08E-06	2.62E-05	2.89	0.000 0
吲哚-3-甲醛 Indole-3-carboxaldehyde	其他 Else	5.33E-04	1.40E-03	2.63	0.001 6
灵芝醇 E EGanoderiol E	其他 Else	3.38E-03	8.74E-03	2.58	0.004 7
道诺霉 Daunorubicin	蒽环类 Anthracyclines	4.60E-05	1.19E-04	2.58	0.009 8
胡椒碱 Pipericine	其他 Else	2.06E-04	4.96E-04	2.41	0.008 8
马斯林酸 3-O-b-D-葡萄糖苷 Maslinic acid 3-O-b-D-glucoside	其他 Else	3.60E-03	7.75E-04	2.15	0.003 5
13,14-二氢-15-酮前列腺素 A2 13,14-Dihydro-15-ketoprostaglandin A2	其他 Else	1.06E-05	2.22E-05	2.10	0.008 0
N-乙酰碱 N-Acetylcadaverine	其他 Else	5.57E-06	1.16E-05	2.09	0.001 7
2,2-二甲基丁二酸 2,2-Dimethyl Succinic acid	脂肪酰基 Fatty Acyls	1.68E-06	3.22E-06	1.91	0.001 6
丝氨酸-组氨酸 Serinyl-Histidine	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives	8.08E-06	1.46E-05	1.81	0.009 7
1H-吲哚-3-丙酸 1H-Indole-3-propanoic acid	吲哚及其衍生物 Indoles and derivatives	1.71E-05	2.94E-05	1.72	0.004 5
鸢尾酮 Alpha-Irone	其他 Else	3.33E-05	4.95E-05	1.49	0.007 0
对甲酚 P-cresol	酚类 Phenols	2.70E-04	3.23E-04	1.20	0.008 1
溶血磷脂酰乙醇胺(15:0/0:0) LysoPE(15:0/0:0)	其他 Else	8.72E-05	1.04E-04	1.19	0.009 0

2.3 差异代谢物 KEGG 功能注释及富集分析

丽豆与大豆的差异代谢物主要分布在 20 条代谢途径中，其中 P<0.1 的代谢途径有 8 条，分别是二萜类生物合成（diterpenoid biosynthesis）、缬氨酸，亮氨酸和异亮氨酸降解（valine，leucine and isoleucine degradation）、青霉素和头孢菌素生物合成（penicillin and cephalosporin biosynthesis）、肌醇磷酸代谢（inositol phosphate metabolism）、糖基磷脂酰肌醇锚定生物合成（glycosylphosphatidylinositol-anchor biosynthesis）、自噬（autophagy）、赖氨酸生物合成（lysine biosynthesis）、氨基酸的生物合成（biosynthesis of amino acid）（图 3：a）。

初级代谢产物富集量最多的通路是氨基酸的生物合成（biosynthesis of amino acid）（图 3：b），分别为 L-缬氨酸↓、L-酵母氨酸↓、苯丙醇胺↓、高柠檬酸↓；赖氨酸生物合成（lysine biosynthesis），分别为 L-酵母氨酸↓、高柠檬酸↓；苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸的生物合成（phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis），分别为奎尼酸↑、吡哌酸↓；次级代谢产物富集量最多的通路是各类次生代谢生物合成（biosynthesis of various secondary metabolites），分别为罗汉松脂素↑、吡哌酸↓；嘌呤代谢（purine metabolism），分别为吲哚-3-甲醛↑、鸟嘌呤核苷↓；甘油磷脂代谢（glycerophospholipid metabolism），分别为磷脂酰肌醇↓、溶血磷脂酰胆碱(18:3(6Z,9Z,12Z))↓；花生四烯酸代谢（arachidonic acid metabolism），分别为Δ12-前列腺素 J2↑、15-脱氧-Δ-12,14-前列腺素 J2↓；二萜类生物合成（diterpenoid biosynthesis），分别为巴卡丁 III↑、对映-贝壳杉-16-烯-19-酸↓。综上可见，丽豆和大豆的初生代谢产物差异主要集中在各类氨基酸的生物合成上，且整体表现为下调；而次生代谢产物的差异主要集中在罗汉松脂素，花生四烯酸以及二萜类生物合成上，且主要表现为上调。



a. 横轴为注释到该通路的差异代谢物数目，纵轴为通路名称；**b**. 横轴表示该通路中的差异代谢物与有通路注释的所有差异代谢物的比值。**1**. 二萜类生物合成；**2**. 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解；**3**. 青霉素和头孢菌素生物合成；**4**. 肌醇磷酸盐代谢；**5**. 糖基磷脂酰肌醇(GPI)−锚；**6**. 生物合成自噬−其他；**7**. 赖氨酸生物合成；**8**. 氨基酸的生物合成；**9**. 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成；**10**. 各种次级代谢产物的生物合成−第 2 部分；**11**. 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成；**12**. 磷酸盐和次磷酸盐代谢；**13**. 核黄素代谢；**14**. 磷脂酰肌醇信号系统；**15**. 嘌呤代谢；**16**. 甘油磷脂代谢；**17**. 糖酵解/葡萄糖生成；**18**. 吲哚生物碱生物合成；**19**. 葡萄糖苷酸生物合成；**20**. 花生四烯酸代谢。

a. The horizontal axis is the number of differential metabolites annotated to the pathway, and the vertical axis is the name of the pathway; **b.** The horizontal axis represents the ratio of the differential metabolite in this pathway to all the differential metabolites

with pathway annotation. **1**. Diterpenoid biosynthesis; **2**. Valine, leucine and isoleucine degradation; **3**. Penicillin and cephalosporin biosynthesis; **4**. Inositol phosphate metabolism; **5**. Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor; **6**. biosynthesis Autophagy-other; **7**. Lysine biosynthesis; **8**. Biosynthesis of amino acids; **9**. Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis; **10**. Biosynthesis of various secondary metabolites-part 2; **11**. Valine, leucine and isoleucine biosynthesis; **12**. Phosphonate and phosphinate metabolism; **13**. Riboflavin metabolism; **14**. Phosphatidylinositol signaling system; **15**. Purine metabolism; **16**. Glycerophospholipid metabolism; **17**. Glycolysis/Gluconeogenesis; **18**. Indole alkaloid biosynthesis; **19**. Glucosinolate biosynthesis; **20**. Arachidonic acid metabolism.

图 3 差异代谢物(**a**)通路分类图和(**b**)KEGG 富集图

Fig. 3 Differential metabolites (**a**) pathway classification map and (**b**) KEGG enrichment map

3 讨论与展望

代谢产物是生物体代谢过程中产生或消耗的有机化合物，它的组成种类和含量决定着植物的营养价值（李静等，2017）。本研究对丽豆和大豆的比较代谢组研究结果显示：我们在二者中共检测到 1 857 种代谢产物，而丽豆中超过 90%的代谢产物与大豆不仅在成分上相似，含量上也相近，这一结果可能与二者是近缘种有关，同时也表明丽豆与大豆一样，具有很高的营养价值，具备成为我们未来生活中植物蛋白第二来源的潜力。

在对二者的差异代谢物分析中，我们共检测到 159 种化学组分，其中有 48 种（约 30%）在丽豆中的含量高于大豆。KEGG 注释结果表明，这 48 种化学组分主要是一些次生代谢物，且大多集中在罗汉松脂素，花生四烯酸以及二萜类生物生物合成上。比如，△12-前列腺素 J2（△12-prostaglandin J2,△12-PGJ2），它在丽豆中的含量是大豆中的 107 倍，有研究表明利用△12-前列腺素 J2 形成的以聚乳酸-乙醇酸共聚物为载体的纳米粒（△12-PGJ2-NC）可以使某些骨坏损区的基因和蛋白表达水平上调，可应用于牙周病的治疗，并且在骨坏损的修复方面具有很好的应用潜力和开发价值（Chen et al.,2015）；奎尼酸，它在丽豆中的含量是大豆中的 68 倍，它可以抑制血小板的凝集，对脑血栓的形成具有一定抑制效应，在体内还可以转化为特殊物质，对病毒和癌细胞产生抑制作用，可用于抗病毒和抗癌药物的制备，此外奎尼酸还具有抑制疼痛和减轻炎症的效果（周萌，2013）；阿莫曲坦在丽豆中的含量是大豆中的 40 倍，它是抗偏头痛药物中的有效成分，可用于治疗常见的急性偏头痛发作，且具有很高的血管选择性，耐受性比较好，已被广泛应用（王鹏等，2016）；N-甲基酪胺，在丽豆中的含量是大豆中的 31 倍，可用于治疗休克（严幼芳等，1983；戴汉云和熊正东，1989）。氨苄西林（ampicillin），别名氨苄青霉素，在丽豆中的含量是大豆中的 13 倍。它是一种可以抑制体内致病菌的抗生素，通常用于治疗多种细菌感染疾病如呼吸道、肠道细菌感染、脑膜炎以及感染性心内膜炎等（杨茜，2022）。乙磺酰亚胺又称乙琥胺，在丽豆中的含量是大豆中的 12 倍，可用于治疗老年性耳聋（苏毅鹏，2014）和儿童失神性癫痫（范磊和陈海燕，2013）。4-羟基苯甲酸甲酯和脱落酸，在丽豆中的含量是大豆中的 11 倍。前者能延缓与年龄相关的生理过程的衰退（Mi et al., 2018），后者可以抑制多种癌细胞的增殖，还可以促进间质干细胞的增大和定向造血干细胞的生长，是多种疾病治疗的潜在药物（郭天艺，2017）。阿魏酸，在丽豆中的含量超过大豆 10 倍，有研究表明，阿魏酸可以抑制炎症反应，达到治疗动脉粥样硬化的目的（杨琳洁等，2021）。

除了上述化学组分外，本研究还发现了一些丽豆特有的化学组分。比如，β-胍基丙酸，它对于调节血糖水平、改善高血糖症具有一定的疗效，且β-胍基丙酸是一种可以溶于水的结晶粉末，因此糖尿病患者有时会将其加入食物中作为补充剂（Baumgarner et al.，2015）。巴卡丁 III 是丽豆中的又一特有组分，它是紫杉酚的前体，它可以显著促进机体产生更强的免疫球蛋白，还可诱导机体产生 Th1 和 Th2 型免疫反应，是一种理想的待开发疫苗佐剂（袁林，2014）。此外，还有罗汉松脂素，又称马泰瑞松醇，它是一种较为常见的植物木酚素，具有抗肿瘤血管发生、减弱真菌活性、消除体内自由基和抗癌作用（Xu et al., 2017）。

综上所述，我们认为丽豆的营养价值与大豆相似，且其富含的一些次级代谢产物在改善人体多种疾

病方面有积极的作用。此外，本研究结果也表明丽豆种子的代谢产物种类丰富，尤其是那些对人体非常重要的次生代谢物，具有很高的开发价值，这些都为我们后期深入研究丽豆的营养价值以及科学地规划人工栽培提供参考和借鉴。

参考文献：

BAUMGARNER BL, NAGLE AM, QUINN MR, et al., 2015. Dietary supplementation of β-guanidinopropionic acid (β-GPA) reduces whole-body and skeletal muscle growth in young CD-1 mice[J]. Mol Cell Biochem, 403(1-2): 277-285.

CHEN LL, WEI F, SUN WL, et al., 2015. Delta12-prostaglandinJ2-nano capsule up-regulates growth factor expression and enhances bone regeneration in rats[J]. Chin J Stomatology, 50(3): 151-156.

Chinese Botanical Committee of the Chinese Academy of Sciencces. 1993. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: *Calophaca* Fisch. (Vol. 42 (1)) [M]. Beijing: Science Press: 67–71. [中国科学院中国植物志编辑委员会. 1993. 中国植物志：丽豆属（第 42(1)卷）[M]. 北京：科学出版社：67-71.]

DAI HY, XIONG ZD. 1989. Synthetic synephrine and N-methyltyramine as efficacious from Zhishi (*Citrus aurantium* L.) for treatment of shock patients[J]. Chin J Pharm, 24(10): 612-613. [戴汉云，熊正东. 1989. 化学合成枳实有效成分——对羟福林和 N-甲基酪胺临床资料总结[J]. 中国药学杂志，24(10): 612-613.]

DUAN LX, QI XQ. 2015. GC-MS-based plant metabolomics researches[J]. Life Sci, 27(8): 971-977. [段礼新，漆小泉. 2015. 基于 GC-MS 的植物代谢组学研究[J]. 生命科学，27(8): 971-977.]

FAN L, CHEN HY. 2013. Comparison of the efficacy of Ethosuximide and Lamotrigine in the treatment of absence epilepsy in children[J]. Chin J Mod Drug Appl, 7(13): 161-162. [范磊，陈海燕. 2013. 乙琥胺与拉莫三嗪治疗儿童失神性癫痫的疗效比较[J]. 中国现代药物应用, 7(13): 161-162.]

GAO SF, ZHANG JP, SHI YH, et al., 2022. Metabolomics analysis of ovary of comparative of *Coilia nasus* in seawater and freshwater based on liquid chromatography-mass spectrometry[J]. S Chin Fish Sci, 18(3): 68-75. [高淑芳，张金鹏，施永海，等. 2022. 基于 LC-MS 技术的海、淡水养殖刀鲚卵巢的代谢组学比较分析[J]. 南方水产科学，18(3): 68-75.]

GONG R, HUANG DQ, CHEN YB, et al., 2020. Comparative metabolomics analysis reveals the variations of eating quality among three high-quality rice cultivars[J]. Mol Breed, 40(12). DOI: 10.1007/S11032-020-01192-Y.

GUO FD, WANG XJ, HOU L, et al., 2017. Research progress of metabolomics in plant[J]. Shandong Agric Sci, 49(12): 154-162. [郭凤丹，王兴军，侯蕾，等. 2017. 植物代谢组学研究进展[J]. 山东农业科学，49(12): 154-162.]

GUO QX. 2021. Investigation of wild animals in Shanxi Tianlong Mountain Nature Reserve based on infrared camera[J]. For Shanxi, 2021(S2): 26-27. [郭秋霞. 2021. 基于红外线照相机对山西天龙山自然保护区野生动物调查[J]. 山西林业，2021(S2): 26-27.]

Guo TY. 2017. Research progress on the pharmacological action of abscisic acid[J]. J Clin Med Lit, 4(77): 15239+15242. [郭天艺. 2017. 脱落酸的药理作用研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 4(77): 15239+15242.]

Guo YP, Li HJ. 2022. Response of soil respiration to soil moisture, temperature and vegetation factors in two shrub communities of Tianlong mountain area[J]. Soils Fert Sci Chin, 2022(4): 131-139. [郭艳萍，李洪建. 2022. 天龙山灌丛生态系统土壤呼吸对水热和植被因子的响应[J]. 中国土壤与肥料，2022(4): 131-139.]

JIANG W, WENG GH, CHEN JD, et al., 2021. Comparative analysis of chemical constituents of *Polygonatum*

cyrtonema Hua of red and green stem type based on LC-MS metabolomics[J]. Chin Agr Sci Bull, 37(17): 32-38. [姜武，翁国杭，陈家栋，等. 2021. 基于 LC-MS 代谢组学的红杆与绿杆型多花黄精化学成分比较研究[J]. 中国农学通报，37(17): 32-38.]

JULIAN CV, C.H RDV, HARRIE AV, et al., 2003. Regulation of floral scent production in *petunia* revealed by targeted metabolomics[J]. Phytochemistry, 62(6): 997-1008.

KUMAR V, RANI A, RAWAL R, et al., 2013. Lipoxygenase-2-free Indian soybean(*Glycine max* L.) genotypes[J]. Curr Sci, 104(5): 586-587.

LI J, WEI YH, QIN XM, et al., 2017. Chemical comparison on different parts of *Angelica Sinensis Radix* based on NMR metabolomics[J]. Chin Traditional Herbal Drug, 48(7): 1409-1415. [李静，魏玉海，秦雪梅，等. 2017. 基于 NMR 代谢组学技术的当归不同部位化学成分比较[J]. 中草药，48(7): 1409-1415.]

LI JP, CHEN S. 2019. Analysis of Nutrient Components in *Calophaca sinica* Seeds in Tianlong Mountain[J]. For Sci Technol, 2019(7): 60-63. [李建平，陈思. 2019. 天龙山珍稀灌木丽豆(*Calophaca sinica*)种子营养成分初步研究[J]. 林业科技通讯，2019(7): 60-63.]

LIN YP, SI DY, LIU CX. 2007. Advances of liquid chromatography/mass spectrometry combined with chemometric approaches applied to metabolomics[J]. Anal Chem, 35(10): 1535-1540. [林艳萍，司端运，刘昌孝. 2007. 液相色谱和质谱联用技术结合化学计量学应用于代谢组学的研究进展[J]. 分析化学，35(10): 1535-1540.]

MA Q. 2012. Study on the ecological characteristics of endangered *Calophaca Sinica* community in Tianlong mountain[D]. Taiyuan: Shanxi University: 1-3.[马倩. 2012. 天龙山珍稀植物丽豆分布区群落生态研究[D]. 太原：山西大学：1-3.]

MI XN, WANG LF, HU Y, et al., 2018. Methyl 3,4-Dihydroxybenzoate enhances resistance to oxidative stressors and lifespan in *C.elegans* partially via daf-2/daf-16[J]. Int J Mol Sci, 19(6): 1670.

RAFAEL L, CLAUDIA F, DAVID A, et al., 2019. Comparative metabolite fingerprinting of legumes using LC-MS-based untargeted metabolomics[J]. Food Res Int, 126(C). DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108666.

SU YP. 2014. An experimental study of therapeutical effects on presbycusis of ethosuximide[D]. Binzhou: Binzhou Medical College: 18-23. [苏毅鹏. 2014. 乙琥胺治疗老年性耳聋的实验性研究[D]. 滨州：滨州医学院：18-23.]

TAMAS B, PETER TB, JAMES E. 2011. Drug targets: single-cell transcriptomics hastens unbiased discovery[J]. Trends Pharmacol Sci, 33(1): 9-16.

WANG P, GAO YX, LIAO FG. 2006. Almotriptan: a new antimigraine drug[J]. Chin J New Drug, 15(2): 152-154. [王鹏，高永鑫，廖福广. 2006. 抗偏头痛新药阿莫曲坦[J]. 中国新药杂志，15(2): 152-154.]

WU HZ, HAN LJ, WU YB, et al., 2019. Evaluation on drought resistance of *Calophaca Sinica* under drought stress[J]. Shanxi For Sci Technol, 48(4): 1-5+11. [武红柱，韩丽君，武玉斌，等. 2019. 干旱胁迫下丽豆抗旱性评估[J]. 山西林业科技，48(4): 1-5+11.]

WU LL. 2022. Comparison of two methods for genomic DNA extraction from transgenic soybean[J]. Mod Rural Sci Technol, (3): 60-62. [武林琳. 2022. 两种转基因大豆基因组 DNA 提取方法的比较[J]. 现代农村科技，(3): 60-62.]

WU SL, TANG M, ZHANG XM, et al., 2022. Analysis of metabolites change from flowering to withering of *Rhododendron delavayi* based on LC-MS/MS[J]. Guihaia, 42(7): 1170-1180. [武绍龙，唐明，张习敏，等. 2022. 基于 LC-MS/MS 分析马缨杜鹃花代谢物的变化[J]. 广西植物，42(7): 1170-1180.]

XIE Y, WANG Y, LI PP, et al., 2018. Species Identification of wild *Calophaca* in Shanxi Province using DNA barcode[J]. Shanxi For Sci Technol, 47(04): 21-24. [谢勇，王洋，李佩萍，等. 2018. 山西省野生丽豆的 DNA 条形码物种鉴定[J]. 山西林业科技，47(04): 21-24.]

XU P, HUANG MW, XIAO CX, et al., 2017. Matairesinol suppresses neuroinflammation and migration

associated with Src and ERK1/2-NF-κB pathway in activating BV2 microglia[J]. Neurochem Res, 42(10): 2850-2860.

YAN YF, ZHONG HP, LIU ZS, et al., 1983. The pharmacological mechanism of antishock Chinese medicine Zhishi-effect of N-methyltyramine and Synephrine on plasma and myocardium cyclic nucleotides levels[J]. J Hunan Med Coll, 8(2): 145-147. [严幼芳，钟慧平，刘哲生，等. 1983. 枳实有效成份抗休克的作用机制——N-甲基酪胺和对羟福林对血浆和心肌环核苷酸含量的影响[J]. 湖南医学院学报，8(2): 145-147.]

YANG LJ, YANG KL, ZHONG WL, et al., 2021. Study on anti-arteriosclerosis mechanism of ligustrazine and ferulic acid based on network pharmacology[J]. Drug Eval Res, 44(12): 2555-2562. [杨琳洁，杨凯丽，钟宛凌，等. 2021. 基于网络药理学探讨川芎嗪与阿魏酸抗动脉粥样硬化的作用机制[J].药物评价研究，44(12): 2555-2562.]

YANG Q, YANG CY, YANG WX, et al., 2022. Effects of ampicillin on immune function, oxidative stress and th1/th2 factor of third trimester patients with syphilis[J]. Chin J Nosocomial Infect, 32(2): 261-265. [杨茜，杨春艳，杨文信，等. 2022. 氨苄西林对孕晚期梅毒患者免疫功能和氧化应激及 Th1/Th2 因子水平的影响[J]. 中华医院感染学杂志，32(2): 261-265.]

YUAN L, GUO JJ, QIU XZ, et al., 2014. Adjuvant effect of Baccatin III on the immune responses to ovalbumi in mice[J]. Anim Husbandry Veter Med, 46(7): 27-32. [袁林，郭建军，邱小忠，等. 2014. 巴卡丁III对模式抗原鸡卵清白蛋白的免疫佐剂作用[J]. 畜牧与兽医，46(7): 27-32.]

YUAN PL, HE N, UMER MJ, et al., 2021. Comparative metabolomic profiling of *Citrullus* spp. fruits provides evidence for metabolomic divergence during domestication[J]. Metabolites, 11(2): 78.

ZENG CZ, LIU ZH, LIU ZX, et al., 2017. Advances in application of metabolomics to *Camellia sinensis* research [J]. Chin J Plant Physiol, 53(9): 1591-1597. [曾超珍，刘仲华，刘志祥，等. 2017. 代谢组学在茶树研究中的应用进展[J]. 植物生理学报，53(9): 1591-1597.]

ZHANG CY. 2018. Study on the molecular mechanism of drought resistance in *Gossypium hirsutum* races based on transcriptome and metabolomics[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences: 4-5. [张传义. 2018. 陆地棉野生种系基于转录组与代谢组学抗旱分子机制研究[D]. 北京：中国农业科学院：4-5.]

ZHOU M. 2013. Contents of flavonoids and caffeoyl quinic acid and the antioxidant capacity and investigation of late blight resistance in different tomato varieties[D]. Taian: Shandong Agricultural University: 20-32. [周萌. 2013. 不同番茄品种类黄酮和咖啡酰奎尼酸含量、抗氧化能力以及晚疫病抗病性调查[D]. 泰安：山东农业大学：20-32.]